

## 不同钴源对肉羊 VB<sub>12</sub>营养状况的影响及其生物学效应

王润莲<sup>1,2</sup> 朱晓萍<sup>1</sup> 张玉枝<sup>1</sup> 孔祥浩<sup>1</sup> 贾存玲<sup>1</sup> 贾志海<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学 动物科学技术学院, 北京 100094; 2. 广东海洋大学 动物科学系, 广东 湛江 524088)

**摘要** 为研究不同钴源对肉羊 VB<sub>12</sub>营养状况的影响及其生物学效应,选 24 只健康、体重相近((23.6 ± 0.8) kg)的杂交一代羯羊,饲喂加入硫酸钴、氯化钴、乙酸钴和氧化钴的试验日粮,试验期 8 周。结果表明:1) 硫酸钴、氯化钴、乙酸钴、氧化钴的相对生物学有效率分别为 100%、95.66%、89.50%和 22.56%( $P < 0.01$ );2) 硫酸钴、氯化钴、乙酸钴和氧化钴组血浆 VB<sub>12</sub>的含量分别为 1 666.9、1 594.5、1 493.3 和 376.1 pmol/L,硫酸钴、氯化钴组相近,乙酸钴组稍低,而氧化钴组明显下降,血浆甲基丙二酸含量为 2.94、3.01、3.49 和 3.99 μmol/L;同型半胱氨酸含量为 8.91、9.23、9.97 和 10.78 μmol/L,硫酸钴与氯化钴组相近,乙酸钴组稍有增加,而氧化钴组明显升高,3 个指标反映了一致的钴营养状况。但 4 个钴源组血浆叶酸含量(18.79、17.05、17.41 和 16.54 nmol/L)和葡萄糖含量(3.80、3.74、3.82 和 3.64 mmol/L)未显差异( $P > 0.05$ );3) 硫酸钴、氯化钴、乙酸钴和氧化钴组血液红细胞数分别为  $10.97 \times 10^{12}$ 、 $10.97 \times 10^{12}$ 、 $11.01 \times 10^{12}$  和  $9.64 \times 10^{12} L^{-1}$ ;红细胞压积为 34.52%、34.67%、34.70%和 32.70%;血红蛋白为 107.17、106.33、106.83 和 98.22 g/L。前 3 种钴源组明显大于( $P < 0.05$ )氧化钴组,其改善机体造血机能的作用优于氧化钴。由此可见,硫酸钴、氯化钴和乙酸钴对肉羊 VB<sub>12</sub>的营养状况及生物学效应相近,均高于氧化钴。

**关键词** 绵羊; 钴; VB<sub>12</sub>; 生物学效应

中图分类号 S 816.5; S 826

文章编号 1007-4333(2006)04-0037-05

文献标识码 A

## Influence of cobalt sources on VB<sub>12</sub> status and their biological functions in sheep

Wang Runlian<sup>1,2</sup>, Zhu Xiaoping<sup>1</sup>, Zhang Yuzhi<sup>1</sup>, Kong Xianghao<sup>1</sup>, Jia Cunling<sup>1</sup>, Jia Zhihai<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Department of Animal Science, Guangdong, Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract** The experiment aimed at studying the effects of different cobalt sources on vitamin B<sub>12</sub> status and their biological functions in sheep. Twenty four healthy wethers with an average weight of (23.6 ± 0.8) kg were divided randomly into 4 groups and fed with different experimental diets in which the cobalt were supplied as cobalt sulphate, cobalt chloride, cobalt acetate and cobalt oxide. All animals were individually fed with a constant concentration and hay for 8 weeks. Results showed that VB<sub>12</sub> production from cobalt in lambs was similar when using cobalt sulphate and cobalt chloride, and was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in cobalt sulphate than in cobalt acetate. However, VB<sub>12</sub> production significantly decreased in cobalt oxide treatment compared with other forms of cobalt sources. The relative bioavailability of cobalt sulphate, cobalt chloride, cobalt acetate and cobalt oxide was 100%, 95.66%, 89.50% and 22.56% respectively. Plasma concentrations of methylmalonic acid (2.94, 3.01, 3.49 and 3.99 μmol/L) and homocysteine (8.91, 9.23, 9.97 and 10.78 μmol/L) reflected similar results with those based on plasma VB<sub>12</sub> concentration. However, Plasma concentrations of folate (18.79, 17.05, 17.41 and 16.54 nmol/L) and glucose (3.80, 3.74, 3.82 and 3.64 mmol/L) could not be used to assess cobalt status. Compared with cobalt oxide, the other forms of cobalt sources had larger positive influence on animal blood production. In conclusion, cobalt sulphate, cobalt chloride and cobalt acetate were more available than cobalt oxide for sheep.

收稿日期: 2006-02-08

基金项目: 国家高技术发展计划资助项目(2002AA241181)

作者简介: 王润莲, 博士研究生, 副教授, E-mail: wangrunlian2005@163.com; 贾志海, 教授, 通讯作者, 主要从事反刍动物营养及养羊科学研究。E-mail: jzh331@cau.edu.cn

Key words sheep; cobalt; vitamin B<sub>12</sub>; biological functions

钴是反刍动物必需微量元素,瘤胃微生物合成 VB<sub>12</sub>需要钴的参与,而 VB<sub>12</sub>是甲基丙二酰 CoA 变位酶和 5-甲基四氢叶酸甲基转移酶等多种酶的辅酶,参与和调节体内的丙酸代谢、叶酸代谢、蛋氨酸和核酸合成、蛋白质和脂肪代谢等<sup>[1]</sup>。反刍动物一旦缺钴(日粮(DM)含钴 0.7 mg/kg 以下)就会出现异嗜、拒食、生长不良、消瘦和贫血等症,血液中 VB<sub>12</sub>含量下降、甲基丙二酸(MMA)和同型半胱胺(HCY)含量升高、红细胞减少、血红蛋白含量下降等<sup>[2-4]</sup>。所以,研究不同钴源的生物学效应对合理地利用钴添加剂有重要意义。

作为饲料添加剂的含钴化合物有多种,但对不同钴源的生物学利用率及其应用效果的研究非常有限。用高剂量(DM,20、40 和 60 mg/kg)钴进行的体内外试验,发现硫酸钴形式的钴在肝肾等组织中沉积的量以及合成 VB<sub>12</sub>的效率最高,其次是碳酸钴和葡萄糖糖钴,氧化钴最低。生理剂量(DM,0.05、0.10 和 1.00 mg/kg)添加的肉牛试验,得出丙酸钴和碳酸钴合成 VB<sub>12</sub>的效果近似。已有的研究只得出了部分钴源的结果,也仅仅比较了不同钴源合成 VB<sub>12</sub>的效率和组织中钴的沉积量,而且是超剂量添加下的研究结果,就生理剂量下不同钴源的有效率及其生物学效应的研究鲜见报道。本试验旨在研究几种不同钴源的利用效率和添加效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

选择 24 只健康、体重相近((23.6 ± 0.8) kg)的小尾寒羊 × 无角陶赛特 F<sub>1</sub> 公羔,去势后进行试验。试验前统一饲喂未加钴的基础日粮(DM,含钴 0.086 mg/kg)。

### 1.2 试验设计

将 24 只公羔随机均分为 4 组,分别饲喂由 4 种钴源配制的试验日粮。试验期 8 周。

### 1.3 试验日粮

试验饲粮参考 NRC<sup>[5]</sup>绵羊营养需要配制,营养水平可满足日增重 50 g 的需要,4 种钴源为硫酸钴(CoSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)、氯化钴(CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)、乙酸钴(Co(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O)和氧化钴(Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>),钴的添加量为 0.30 mg/kg DM,以沸石粉为载体逐级稀释到预混料后再与精料混合(表 1)。

表 1 试验日粮组成及营养成分

原料/(kg/100 kg)	营养成分/(g/100 g)		
青干草	50.00	粗蛋白	13.96
玉米	27.90	有机物	92.03
小麦麸	12.00	中性洗涤纤维	39.80
豆饼	7.00	酸性洗涤纤维	23.76
棉籽饼	2.00	纤维素	16.81
食盐	0.60	半纤维素	16.04
石粉	0.20	钙	0.34
预混料	0.30	磷	0.34
合计	100.00	代谢能/MJ·kg <sup>-1</sup>	8.92

注: 每千克预混料含 CoSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 476 mg/kg、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 403 mg/kg、Co(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 422 mg/kg、Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 0.136 mg/kg; 预混料含其他微量元素(g/kg): CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 11.72、KI 0.34、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 19.86、MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 18.44、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 37.16、Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.04; 除代谢能外均为实测值; 为干物质中的营养成分。

### 1.4 饲养管理

试验羊单栏饲养,每天分别在 6:00 和 18:00 饲喂 2 次,每天定量饲喂混合精料 450 g 和青干草 450 g,先喂青干草,后喂精料,自由饮水。

### 1.5 样品采集

第 0、2、4、6 和 8 周末早饲前分别取 10 mL 血样,放入装有肝素钠的离心管中,于 2 000 g 离心 15 min,分离血浆后保存于 -20℃ 待测 VB<sub>12</sub>。8 周末血浆样品测定 MMA、HCY 和血糖含量;第 8 周末早饲前另取一份血样,放入装有 EDTA-2Na 的离心管中,其抗凝血立即测定血红蛋白等血液参数。

### 1.6 样品分析

瘤胃液及血浆中的 VB<sub>12</sub>及血浆叶酸含量用电化学发光的方法(Roche Elecsys 2010)。血浆甲基丙二酸含量用气相色谱法<sup>[6]</sup>(Model 6890, Agilent Technologies)。血浆同型半胱胺用荧光偏振免疫法<sup>[7]</sup>(IMX system, Abbott)。血糖、血红蛋白、红细胞总数和红细胞压积用全自动生化分析仪测定(TECHNICON RA-1000)。日粮钴及血浆铁按照 GB/T 13884-92 和 GB/T 13885-92 方法(PE5100 型原子吸收分光光度计)、常规养分参照杨胜<sup>[8]</sup>方法。

### 1.7 统计分析

利用 SAS 软件包(The SAS System for Windows V8)中的 ANOVA 过程进行方差分析,用 Dun-

can 氏法进行多重比较。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同钴源对肉羊 VB<sub>12</sub>营养状况的影响

试验初各组血浆 VB<sub>12</sub>的含量都较低,组间差异不显著( $P > 0.05$ )。随试验周数增加,其含量逐渐升高,但氧化钴组升高的幅度很小。第2和4周末血浆 VB<sub>12</sub>的含量,硫酸钴、氯化钴和乙酸钴组相近,均显著( $P < 0.01$ )高于氧化钴组。第6周末血浆 VB<sub>12</sub>的含量,硫酸钴和氯化钴组、氯化钴和乙酸钴组接近,但硫酸钴组显著( $P < 0.05$ )高于乙酸钴组;3个组均极显著( $P < 0.01$ )高于氧化钴组(表2)。第8周末及第6、8周末的平均 VB<sub>12</sub>含量呈类似规律变化。瘤胃微生物合成 VB<sub>12</sub>需要钴的参与,血液

中 VB<sub>12</sub>的含量与钴的摄入量密切相关,所以,血液 VB<sub>12</sub>含量是评价反刍动物钴营养状况最常用的指标,其最低限量为 220 pmol/L<sup>[11]</sup>。本试验结果表明,硫酸钴和氯化钴产生 VB<sub>12</sub>的效率相近、乙酸钴次之,3个组血浆 VB<sub>12</sub>含量均远远超过缺乏限量,说明这3种形式的钴均能满足动物的需要。氧化钴组血浆 VB<sub>12</sub>含量仅仅稍高于缺乏上限,说明氧化钴产生 VB<sub>12</sub>的效率较差,实践中不宜以此形式提供钴源。试验得出的硫酸钴和氧化钴的有效率与 Kawashima 等<sup>[9-10]</sup>的结果一致,后者用高剂量钴分别进行体外和体内试验,根据 VB<sub>12</sub>产量、肝钴含量得出硫酸钴和氧化钴的生物学利用率分别为 100% 和 12%~24%。有关氯化钴和乙酸钴有效率的研究尚未见报道。

表2 不同钴源对肉羊血浆中 VB<sub>12</sub>含量的影响及其相对生物学有效率

Table 2 Influence of different cobalt sources on vitamin B<sub>12</sub> status in sheep and relative bioavailability pmol/L

饲养时间	CoSO <sub>4</sub>	CoCl <sub>2</sub>	Co(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
初始值	278.2 ±22.1	289.0 ±27.8	268.7 ±33.4	274.0 ±22.1
第2周末	877.8 ±55.6 aA	846.2 ±62.2 aA	819.0 ±29.2 aA	292.7 ±24.2 bB
第4周末	1358.5 ±119.6 Aa	1316.0 ±121.0 aA	1285.8 ±112.2 aA	326.2 ±47.3 bB
第6周末	1647.8 ±119.2 aA	1582.2 ±119.1 abA	1491.5 ±107.7 bA	371.0 ±37.7 cB
第8周末	1686.0 ±157.0 aA	1606.8 ±138.3 abA	1495.0 ±149.0 bA	381.2 ±34.2 cB
第42、56天平均值	1666.9 ±130.4 aA	1594.5 ±128.5 abA	1493.3 ±125.1 bA	376.1 ±35.2 cB
相对有效率/ %	100.00	95.66	89.59	22.56

注:同行数据小写字母不同为差异显著( $P < 0.05$ ),大写字母不同为差异极显著( $P < 0.01$ );下同。

### 2.2 不同钴源对血液代谢指标的影响

表3结果表明,血浆中甲基丙二酸的含量,硫酸钴和氯化钴组接近,均显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )低于乙酸钴和氧化钴组。同型半胱氨酸的结果和甲基丙二酸类似。血浆叶酸和血糖含量各组间均差异不显著( $P > 0.05$ )。

维生素 B<sub>12</sub>是甲基丙二酰 CoA 变位酶和 5-甲基四氢叶酸甲基转移酶的辅酶,前者催化甲基丙二酰 CoA 转变为琥珀酰 CoA,使糖异生过程顺利进行,由丙酸最终转变为葡萄糖;后者可将甲基传递给同型半胱氨酸形成蛋氨酸,并使甲基四氢叶酸还原为四氢叶酸。动物摄入的钴不足时,血浆中 VB<sub>12</sub>含量下降,甲基丙二酰 CoA 变位酶和蛋氨酸合成酶的活性降低,从而使血液中甲基丙二酸和同型半胱氨酸含量升高<sup>[2-4]</sup>。另外,由于 5-甲基四氢叶酸的去甲基过

程受到障碍也可能导致叶酸的功能性缺乏<sup>[11]</sup>。所以,血液中的甲基丙二酸、同型半胱氨酸及肝脏中的叶酸含量被用来评价钴的营养状况<sup>[12-13]</sup>。

本试验硫酸钴和氯化钴组的甲基丙二酸和同型半胱氨酸含量最低、乙酸钴组次之、氧化钴组最高,说明前2种钴源产生 VB<sub>12</sub>的效率较高,促进了甲基丙二酰 CoA 变位酶和蛋氨酸合成酶的活性,相反,氧化钴产生 VB<sub>12</sub>的效率较低,抑制了2种催化酶的活性,降低了丙酸的转化和蛋氨酸合成,使血液中甲基丙二酸和同型半胱氨酸含量升高。另外氧化钴组的甲基丙二酸含量并未超出 5 μmol/L 的缺乏限量<sup>[12]</sup>,也说明该组日粮的钴含量尚未低于最低需要量。这些结果和上述血浆 VB<sub>12</sub>的含量结果完全一致。

血浆叶酸含量各组之间没有明显差异,这与血浆 VB<sub>12</sub>含量的变化有些出入。其结果的差异可能

与叶酸代谢的稳衡机制有关<sup>[14]</sup>。另外,一项肉牛的研究<sup>[13]</sup>表明,血浆叶酸含量并不能表明钴或 VB<sub>12</sub> 的营养状况。

据报道,血糖在钴摄入不足的后期才出现变

化<sup>[2]</sup>,本试验不同的钴源组间血糖未显差异可能与试验期的长短有关。另外,4种钴源提供的钴量均高于动物的最低需要量,从而保障了血糖的稳定。

表3 不同钴源对肉羊血液代谢指标的影响

Table 3 Influence of different cobalt sources on plasma metabolites in sheep

血液指标	CoSO <sub>4</sub>	CoCl <sub>2</sub>	Co(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
甲基丙二酸/(μmol/L)	2.94 ±0.48 cB	3.01 ±0.32 cB	3.49 ±0.401 bAB	3.99 ±0.16 aA
同型半胱胺/(μmol/L)	8.91 ±0.71 cB	9.23 ±0.73 bcB	9.97 ±0.55 bAB	10.78 ±0.65 aA
叶酸/(nmol/L)	18.79 ±1.60	17.05 ±2.41	17.41 ±1.39	16.54 ±1.53
葡萄糖/(mmol/L)	3.80 ±0.21	3.74 ±0.06	3.82 ±0.08	3.64 ±0.19

### 2.3 不同钴源对造血功能的影响

血液红细胞数、红细胞压积和血红蛋白含量,硫酸钴、氯化钴和乙酸钴3个组之间相近,均显著( $P < 0.05$ )高于氧化钴组(表4)。红细胞指数各组间均没有显著( $P > 0.05$ )变化。血浆铁含量氧化钴组最高( $P < 0.05$ ),其他3个组相近。

VB<sub>12</sub>是机体造血机能处于正常状态的必需因子,能促进红细胞的发育和成熟。钴还可直接参与机体的造血功能,其作用渠道有:1)直接刺激作用。钴能促进胃肠道内铁的吸收并加速贮存铁的动员,使铁易于进入骨髓被利用。2)间接刺激作用。钴能抑制很多重要的呼吸酶,引起细胞缺氧,使红细胞生

成素的合成量增加,产生代偿性造血机能亢进<sup>[15]</sup>。Mburu等<sup>[3]</sup>研究表明,钴充足的山羊血清中红细胞压积、血红蛋白浓度和红细胞数显著高于钴缺乏的山羊。本试验得出,硫酸钴、氯化钴和乙酸钴比氧化钴具有明显地增强机体造血机能的作用,说明硫酸钴、氯化钴和乙酸钴的有效率高于氧化钴。从血浆铁的结果看出,硫酸钴、氯化钴和乙酸钴组中的铁更多地被骨髓利用,从而降低了血浆铁含量,3种钴源的直接刺激作用均大于氧化钴。氧化钴的各项参数均在正常的含量范围<sup>[16]</sup>,也说明氧化钴组的钴量并未低于动物需要量。氧化钴组的结果与基础日粮本身的含钴量有关。

表4 不同钴源对肉羊造血功能的影响

Table 4 Influence of different cobalt sources on plasma iron and blood parameters in sheep

测定项目	CoSO <sub>4</sub>	CoCl <sub>2</sub>	Co(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
红细胞数/(10 <sup>12</sup> /L)	10.97 ±0.81 a	10.97 ±1.03 a	11.01 ±0.74 a	9.64 ±0.59 b
红细胞压积/%	34.52 ±0.77 a	34.67 ±1.11 a	34.70 ±1.54 a	32.70 ±1.26 b
血红蛋白/(g/L)	107.17 ±5.27 a	106.33 ±4.68 a	106.83 ±6.27 a	98.22 ±6.25 b
平均红细胞体积/μm <sup>3</sup>	31.60 ±2.05	31.79 ±2.55	31.68 ±2.90	34.00 ±2.26
平均红细胞血红蛋白含量/pg	9.81 ±0.73	9.76 ±0.97	9.75 ±0.88	10.21 ±0.87
平均红细胞血红蛋白浓度/(g/L)	310.39 ±10.94	306.82 ±13.24	307.84 ±10.62	301.04 ±26.60
血浆铁/(μmol/L)	27.13 ±2.73 b	28.75 ±2.48 b	28.11 ±2.07 b	31.95 ±2.38 a

### 3 结论

硫酸钴、氯化钴、乙酸钴和氧化钴对肉羊的相对有效率分别为100%、95.66%、89.59%和22.56%;4种钴源组血浆VB<sub>12</sub>含量,硫酸钴和氯化钴较高、乙

酸钴稍低,氧化钴组明显下降,而血浆甲基丙二酸和同型半胱胺含量,硫酸钴和氯化钴较低、乙酸钴稍有增加,氧化钴组明显升高。血浆叶酸和葡萄糖含量在不同的钴源组间未显差异。硫酸钴、氯化钴和乙酸钴组血液红细胞数、红细胞压积和血红蛋白含量

均显著高于氧化钴组,其改善机体造血机能的作用明显大于氧化钴。硫酸钴、氯化钴和乙酸钴对肉羊 VB<sub>12</sub>的营养状况及生物学效应相近,均高于氧化钴。

### 参 考 文 献

- [1] McDowell L R. Minerals in Animal and Human Nutrition [M]. 2nd edition. Amsterdam, Netherlands: Academic Press, 2003:277-296
- [2] Kennedy D G, Cannavan A, Molloy A, et al. Methylmalonyl-CoA mutase (EC5.4.99.2) and methionine synthase (EC2.1.1.13) in the tissues of cobalt-vitamin B<sub>12</sub> deficient sheep[J]. Br J Nutr, 1990, 64: 721-732
- [3] Mburu J N, Kamau M Z J, Badamana M S. Changes in serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, feed intake, liveweight and hematological parameters in cobalt deficient small east African goats[J]. Int J Vitam Nutr Res, 1993, 63: 135-139
- [4] Kennedy D G, Kennedy S, Blanchflower W J, et al. Cobalt-vitamin B<sub>12</sub> deficiency causes accumulation of odd-numbered, branched-chain fatty acids in the tissues of sheep[J]. Br J Nutr, 1994, 71: 67-76
- [5] NRC. Nutrient requirements of sheep [M]. 5th revised edition. Washington D C: National Academy of Sciences, 1975:49-50
- [6] McMurray C H, Blanchflower W J, Ric D A, et al. Sensitive and specific gas chromatographic method for the determination of methylmalonic acid in the plasma and urine of ruminants[J]. J Chromatogr, 1986, 378: 201-207
- [7] 肖路延,唐志毅,赵月霞. 荧光偏振免疫分析法测定血浆中同型半胱氨酸[J]. 临床检验杂志, 2001, 19: 35-36
- [8] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1993:16-63
- [9] Kawashima T, Henry P R, Ammerman C B, et al. Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 2. Estimation of the relative value of reagent grade and feed grade cobalt sources from tissue cobalt accumulation and Vitamin B<sub>12</sub> concentrations[J]. Nutr Res, 1997, 17: 957-974
- [10] Kawashima T, Henry P R, Bates D G, et al. Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 3. In vitro ruminal production of vitamin B<sub>12</sub> and total corrinoids in response to different cobalt sources and concentrations[J]. Nutr Res, 1997, 17: 975-987
- [11] Shane B, Stokstad E L. Vitamin B<sub>12</sub>-folate interrelationships[J]. Ann Rev Nutr, 1985, 5: 115-141
- [12] O'harte F P M, Kennedy D G, Blanchflower W J, et al. Methylmalonic acid in the diagnosis of cobalt deficiency in barley-fed lambs[J]. Br J Nutr, 1989, 62: 729-738
- [13] Stangl G I, Schwarz F J, Muller H, et al. Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B<sub>12</sub>, folate, homocysteine and methylmalonic acid[J]. Br J Nutr, 2000, 84: 645-653
- [14] Steinberg S E. Metabolism of folate homeostasis [J]. Am J Physiol, 1984, 246: 319-324
- [15] 王安,单安山. 微量元素与动物生产[M]. 黑龙江:黑龙江科学技术出版社, 2003:128-139
- [16] 王桂芹,王艳辉,任艳,等. 放牧羊钴缺乏症的调查报告[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25 (2): 203-207